

مواد ضد انعقاد و محافظ (نگهدارنده) خون:

چنانچه خون تام (Whole blood) یا پلاسما جهت آزمایش لازم باشد، ضد انعقاد را حین جمع آوری نمونه اضافه می نمایند. خون تام به ندرت مورد نیاز آزمایشات شیمی کلینیکی و در حقیقت فقط مورد نیاز جهت اندازه گیری گازهای خون و اندازه گیری آمونیاک می باشد. گرچه ممکن است از آن جهت سنجش گلوکز، نیتروژن اوره و لاکتات نیز استفاده شود. سرم حاصل از خون لخته، نمونه انتخابی جهت بسیاری از سیستمهای سنجش می باشد ولی پلاسما بدست آمده با ضد انعقاد مناسب نیز نمونه با ارزشی است و در بعضی از شرایط نسبت به سرم ترجیح داده می شود. چون جهت تهیه سرم نیاز به 15 تا 30 دقیقه انعقاد کامل خون قبل از سانتریفوژ می باشد، استفاده از پلاسما باعث تسریع آنالیز در حالت های اورژانس میشود. بعلاوه پلاسما بدست آمده از یک حجم معین خون همیشه در مقایسه با سرم بیشتر است. عیب پلاسما تشکیل لخته فیبرین هنگام ذخیره آن و خطر بعدی در انسداد لوله ها در دستگاه خودکار (اتوآنالایزر) می باشد. همچنین پلاسما نمونه مناسب جهت الکتروفورز نمیشود، زیرا حضور فیبرینوژن باعث تفسیر غلط طرح الکتروفورزی می گردد.

از جمله مهمترین ترکیبات ضد انعقاد و محافظ (نگهدارنده) خون عبارتند از: هپارین، EDTA، سیترات، اگزالات، فلورید- سدیم (نگهدارنده) و یدواستات سدیم (نگهدارنده).

هپارین:

بطور وسیعی مورد استفاده قرار می گیرد و حداقل تداخل را با تستهای آزمایشگاهی دارد. این ترکیب بصورت نمکهای سدیم، پتاسیم، لیتیم و آمونیوم موجود می باشد. این ترکیب باعث تسریع عمل آنتی ترومبین III (که باعث خنثی شدن یا بی اثر شدن ترومبین و جلوگیری از تشکیل فیبرین از فیبرینوژن می گردد) می شود. عیب هپارین گرانی آن و اثر زودگذر آن بوده و در اسمیر خون خون رنگ آمیزی شده با روش رایت ایجاد زمینه آبی می نماید. هپارین همچنین در بعضی از آزمایشات تداخل نموده و باعث ایجاد خطا در نتیجه می گردد. به عنوان مثال این ترکیب باعث مهار فعالیت اسید فسفاتاز می گردد. همچنین باعث تأثیر بر اتصال تری یدوتیرونین (T_3) و تیروکسین به پروتئینهای حامل آنها گردیده و بدین ترتیب باعث افزایش در شکل آزاد (غیر متصل به Carrier protein) آنها می گردد.

EDTA:

یک عامل شلاته کننده می باشد که تشکیل کمپلکسی با Ca^{2+} می نماید و بدین ترتیب از انعقاد خون جلوگیری مینماید (Ca^{2+} مورد نیاز برای عمل انعقاد می باشد). EDTA بیشتر بصورت نمکهای دی سدیم، دی پتاسیم یا تری پتاسیم مورد استفاده قرار می گیرد که این ترکیبات به راحتی حل می گردند. غلظتهای زیاد (بالتر از 2 mg/ml) آن باعث چروکیدگی گلبولهای قرمز می گردد. این ترکیب جهت آزمایشات هماتولوژی مناسب است زیرا اجزای سلولی خون را حفظ می نماید.

EDTA باعث مهار آلکالین فسفاتاز، کراتین کیناز، لوسین آمینوپپتیداز و لاکتات دهیدروژناز از طریق شلاته کردن کوفاکتورهای فلزی آنها می گردد. EDTA همچنین نباید در اندازه گیری Ca^{2+} و Fe^{2+} مورد استفاده قرار گیرد (در روشهای فوتومتر). همچنین این ترکیب به دلیل داشتن نیتروژن در سنجش نیتروژن اوره خون (BUN) تداخل می نماید. از طرف دیگر در سنجش سدیم و پتاسیم (الکترولیتهای خون) نیز نباید از نمکهای سدیم و پتاسیم آن استفاده نمود.

فلورید سدیم:

بیشتر به عنوان عامل مهار کننده گلیکولیز مورد استفاده قرار می گیرد، زیرا خاصیت ضد انعقادی ضعیفی دارد. این ترکیب (بعنوان نگهدارنده) به همراه ضد انعقادهای دیگر از قبیل اگزالات پتاسیم مورد استفاده قرار می گیرد. در دمای $25^{\circ}C$ (دمای اتاق) پایداری مقدار قند به مدت 8 تا 24 ساعت می باشد و در دمای $4^{\circ}C$ پایداری آن به مدت 48 تا 72 ساعت می باشد. بدون استفاده از ماده نگهدارنده، غلظت گلوکز

خون تقریباً 10 mg/dl در هر ساعت در دمای 25°C کاهش می‌یابد. میزان کاهش در نوزادان بخاطر بالا بودن فعالیت متابولیکی اریتروسیتهای آنها و در بیماران مبتلا به لوسمی به علت فعالیت متابولیکی زیاد گلبولهای سفید، بیشتر اتفاق می‌افتد (با سرعت بیشتری غلظت گلوکز کاهش می‌یابد).

فلورید سدیم بعلا اینکه دارای حلالیت کمی می‌باشد باید بخوبی مخلوط شده و با نمونه میکس شود و تا بتواند اثر مهارکنندگی خود را اعمال نماید. برای استفاده آن به تنهایی به عنوان یک ترکیب ضد انعقاد باید غلظت آن را سه یا چهار برابر حد معمول در نظر گرفت که البته در این حالت نیز ممکن است تغییر در غلظت بعضی از آنالیتها ایجاد شود زیرا در این حالت ممکن است جریان مایع از سلولها بدرون خون ایجاد شود و سلولها همانند مورد قبل که توضیح داده شد، چروکیده شوند و از طرف دیگر غلظت بعضی از ترکیبات تغییر نماید. فلورید در غلظتهای بالا همچنین بر بعضی از آنزیمها از جمله اوره‌آز (مورد استفاده در سنجش نیتروژن اوره خون) می‌تواند موثر بوده و آنها را مهار نماید.

سیترات:

از محلول سیترات سدیم بطور وسیعی در مطالعات مربوط به انعقاد و مکانیسمهای دخیل در آن استفاده می‌گردد زیرا اثر آن به آسانی با افزودن Ca^{2+} قابل برگشت می‌باشد. از آنجایی که سیترات باعث شلاته شدن کلسیم می‌گردد، بنابراین در اندازه گیری این عنصر نمیتوان از آن استفاده نمود. سیترات باعث مهار آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز و تحریک فعالیت اسیدفسفاتاز (هنگامی که فیل فسفات به عنوان سوبسترا مورد استفاده قرار می‌گیرد) می‌گردد. بعلا اینکه سیترات با مولیدات تشکیل کمپلکس می‌دهد، باعث تداخل در اندازه گیری آن می‌گردد.

اگزالات:

نمکهای سدیم، پتاسیم، آمونیوم و لیتیوم اسید اگزالیک باعث مهار واکنشهای انعقاد از طریق تشکیل کمپلکسهای نا محلول با یونهای Ca^{2+} می‌گردد. غلظت اگزالات مورد استفاده به ازای هر ml خون برابر با 2 mg تا 1 می‌باشد. در غلظتهای بالاتر از 3 mg/ml، ممکن است همولیز رخ دهد. اگزالات باعث مهار آنزیمهایی از قبیل اسیدفسفاتاز، آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز می‌گردد.

یدواستات:

این ترکیب در غلظت 2 mg/ml به عنوان عامل مهارکننده گلیکولیز و جانشینی برای فلورید سدیم عمل می‌نماید و بنابراین به عنوان یک نگهدارنده محسوب می‌گردد. از آنجایی که هیچ اثری روی اوره‌آز ندارد بنابراین از این ماده می‌توان در اندازه گیری گلوکز و اوره بهره جست. این ترکیب تنها کراتین کیناز را مهار می‌نماید.